

Requested document:	JP57002240 click here to view the pdf document
----------------------------	---

ML-236B DERIVATIVE

Patent Number:

Publication date: 1982-01-07

Inventor(s): TANAKA MINORU; TERAHARA AKIRA

Applicant(s): SANKYO CO

Requested Patent: ☐ [JP57002240](#)

Application Number: JP19800076127 19800606

Priority Number(s): JP19800076127 19800606

IPC Classification: A61K31/215; C07C67/00; C07C69/33; C07C69/732

EC Classification:

Equivalents: JP1347361C, JP61013699B

Abstract

NEW MATERIAL: An ML-236B derivative shown by the formula (R is H, lower alkyl, or alkali metal).
EXAMPLE: DUM-4 (when R is H). USE: A remedy for hyperlipemia. Having more improved cholesterol inhibiting activities than ML-236B. PROCESS: Doses of 200mg/kg/day of 236-B are applied to five beagle dogs (shes, 10kg average weight), their urine is collected for three days, 3l of the urine is passed through 500ml of XAD-2 column, eluted with 500ml of 50wt% acetone, acetone is distilled away under reduced pressure, and the residue is adjusted to pH 3 with trifluoroacetic acid. The residue is extracted with 1l ethyl acetate three times to give a DUM-4 (when R is H in the formula).

Data supplied from the esp@cenet database - I2

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57—2240

⑤Int. Cl. ³	識別記号	庁内整理番号
C 07 C 69/33		6556—4 H
67/00		
69/732		6556—4 H
// A 61 K 31/215	A D D	6408—4 C

④公開 昭和57年(1982)1月7日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑤4ML-236B誘導體

⑫発 明 者 寺原昭

東京都品川区広町1丁目2番58
号三共株式会社醸酵研究所内

②特 願 昭55—76127

②出 願 昭55(1980)6月6日

⑦出願人 三共株式会社

⑦發明者 田中実

東京都中央区日本橋本町3丁目
1番地の6

東京都品川区広町1丁目2番58
号三共株式会社中央研究所内

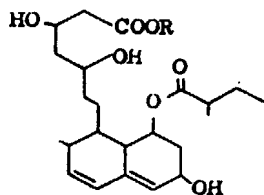
⑦④代 理 人 弁 理 士 檉 出 庄 治

明 細 帳

1. 発明の名称

ML-236B 誘導體

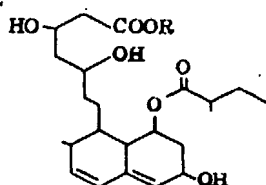
2. 待許請求の範囲式



(式中、Rは水素原子、低級アルキル基またはアルカリ金属を示す。)で示されるML-236 B誘導体。

3. 発明の詳細を説明

本 発 明 の 式



(1)

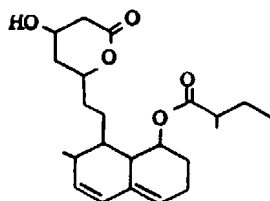
で示される ML-236B 誘導体に関するものである。

上記式中、Rは水素原子；メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルなどの低級アルキル基；ナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属を示す。

前記式(1)で示される化合物は新規物質であり、動物に対するML-236B投与実験中に、その代謝産物として分離されたものである。

ML-236B 自体は既知物質であり、青カビの一種ペニシリウム・チトリヌムの代謝産物より分離、精製された物質で、実験動物から分離した酵素系や培養細胞系においてコレステロールの生合成をその律速酵素の 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル・コエンザイム A リダクターゼと競合することにより阻害し、動物の個体レベルにおいても強力な血清コレステロールの低下作用を示すことが知られている（特開昭 50-155690 号、ジャーナル・オブ・アンチバイオティクス 29 巻 1346~1348 頁 1976 年）。

ML-236Bは次の化学構造を有している。



本発明者らはML-236Bを動物に投与してその代謝産物を研究中、前記式(1)で示される新規物質がML-236Bにはるかに優るコレステロール阻害活性を有することを見出した。前記式(1)で示される化合物の中、Rが水素原子で示される物質を以後DUM-4と略称する。

式(1)で示される化合物は次の方法で得られる。

実施例1

ビーグル犬5匹(牡、平均体重10kg)にML-236Bを200mg/kg/dayの割合で投与し、3日間採尿した。この中3日の尿をXAD-2カラム500mlに通し、50%アセトン500mlで溶出し、

おけるジアゾメタンに代えて適当なジアゾアルカンを使用すると、該当するDUM-4のアルキルエステルが得られる。

実施例2

兎肝臓ホモジネートを用いた次の酵素反応によりML-236BよりDUM-4を得た。

1) 酵素液

兎肝臓に3倍量の1.15% KCl-10mM リン酸緩衝液(pH 7.4)を加えてホモジナイズし、このホモジネートを9000rpmで20分間遠心分離し、上清画分を酵素液とした。

2) コファクター溶液

還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドホスフェート(NADPH) 3mg
MgCl₂ 溶液(508mg/10ml) 0.1ml
1.15% KCl 溶液 0.3ml
0.2M リン酸緩衝液(pH 7.4) 0.6ml
を混合し、全量1mlとし、これをコファクター溶液とした。

アセトンを減圧で留去した後、残留液をトリフルオロ酢酸でpH3に調整した。次いで1mlの酢酸エチルで3回抽出するとDUM-4が得られる。本化合物は薄層クロマトグラフィー(TLC)(TLCプレート;メルク社製シリカゲルArt 5715, 溶媒;ベンゼン:アセトン:酢酸=50:50:3)によりR_f値0.45を示す。上記抽出液を飽和食塩溶液で洗浄し、ジアメタンのエーテル溶液を加え30分放置後、減圧乾燥した。残渣を55%メタノール10mlに溶解し、カラムクロマト(メルク社, RP-8, サイズB)にかけた。最初、55%メタノール200mlを流した後、60%メタノールで溶出し、初めの240mlは捨て、次のフラクション120mlを集めた。溶剤を留去して乾燥し、残渣を65%メタノール2.5mlに溶解、さらに高速液体クロマトグラフィー(JASCO-Trirotar, カラム:μ-ボンダパックC₁₈)により精製し、第4ピークを示す部分を分取して溶剤を留去するとDUM-4メチルエステルが無色油状体として得られた。なお、本操作に

3) 反応溶液

酵素液80μl, コファクター溶液20μlおよび基質としてML-236Bを最終濃度1mMになるように2μlメタノール溶液として添加し、37℃で30分間振盪した。

上記反応によりDUM-4が生成し、この物質はTLC上(実施例1と同一条件)、実施例1で得られたDUM-4と同一のR_f値を示した。このようにして得られたDUM-4は実施例1に記載の方法によりジアゾメタンでメチルエステル化するとDUM-4メチルエステルが得られる。また兎肝臓ホモジネートの代りに犬肝臓ホモジネートを用いても同様な結果が得られた。

実施例3

DUM-4メチルエステル2mgを0.1N-NaOH 1mlに溶解させ、30℃で1時間加水分解する。これをクロロホルム1mlで洗浄し、水層を0.1N HClでpH8に補正し、XAD-2カラム(約5

ml) にかける。20 ml の蒸留水で洗った後、50 % アセトン 15 ml で溶出し、アセトンを留去させ、高速液体クロマトグラフィーによりシングルピークであることを確認 (40 % メタノール 1 ml/min で溶出し、Retention time 13 分) した後、凍結乾燥を行ない、DUM-4 Na 塩 0.8 mg が得られた。

式 (1) で示される化合物は次の特性を有する。

A. DUM-4 メチルエステル

1) NMR スペクトル

重クロロホルム中内部基準に TMS を使用して 200 MHz で測定した。

(CDCl₃) δ ppm :

- 0.88 (3H, t, J = 7.3 Hz)
- 0.89 (3H, d, J = 6.5 Hz)
- 1.12 (3H, d, J = 6.8 Hz)
- 1.1 ~ 1.7 (10H, m)
- 2.34 (1H, sex, J = 7 Hz)
- 2.3 ~ 2.5 (2H, m)
- 2.49 (2H, d, J = 6.4 Hz)

TLC プレート : メルク社製シリカゲル

Art 5715

溶媒 : ペンゼン : アセトン (1 : 1)

R_f 値 0.88

6) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

ウォータース社製 HPLC により、 μ -ボンドパック C₁₈ を使用、流速 1 ml/min、溶媒 65 % メタノールで Retention time 15 分。

B. DUM-4 Na 塩

1) NMR スペクトル

重メタノール中、内部基準に TMS を使用して 200 MHz で測定した。

(CD₃OD) δ ppm :

- 0.91 (3H, t, J = 7.5 Hz)
- 0.92 (3H, d, J = 7 Hz)
- 1.12 (3H, d, J = 7 Hz)
- 1.1 ~ 1.8 (10H, m)
- 2.25 (1H, d, d, J = 15, 7.6 Hz)
- 2.34 (1H, d, d, J = 15, 5.5 Hz)
- 2.2 ~ 2.4 (3H, m)

2.58 (1H, m)

3.72 (3H, s)

3.78 (1H, m)

4.25 (1H, quin, J = 7 Hz)

4.4 (1H, m)

5.42 (1H, m)

5.56 (1H, m)

5.90 (1H, d, d, J = 9.8, 5.6 Hz)

5.99 (1H, d, J = 9.8 Hz)

2) マススペクトル

N,O-ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミドでシリル化した後、日本電子製 D-300 型を用いて測定した。

m/e : 654 (M⁺), 552, 462, 372, 290, 272, 233, 231

3) 紫外外部吸収スペクトル (エタノール溶液)

λ_{\max} (nm) : 236.1, 237.3, 246.4

4) 赤外部吸収スペクトル (薄膜法) cm⁻¹ :

3400, 2950, 1730, 1600

5) TLC

2.48 (1H, m)

3.68 (1H, m)

4.07 (1H, m)

4.28 (1H, m)

5.36 (1H, m)

5.48 (1H, d, d, J = 3, 2 Hz)

5.88 (1H, d, d, J = 9.6, 5.3 Hz)

5.98 (1H, d, J = 9.8 Hz)

2) 紫外外部吸収スペクトル (メタノール溶液)

λ_{\max} (nm) : 230.0, 237.2, 245.0

3) 赤外部吸収スペクトル (KBr 法) cm⁻¹ :

3400, 2900, 1725, 1580

4) TLC

TLC プレート : メルク社製シリカゲル

Art 5715

溶媒 : ペンゼン : アセトン : 酢酸 (50 : 50 : 3)

R_f 値 0.45

5) HPLC

ウォータース社製 HPLC により、 μ -ボンドパック C₁₈ を使用、流速 1 ml/min、溶媒

40%メタノールでRetention time 13分。

コレステロール合成阻害作用

前記式(1)で示される化合物はコレステロール合成経路上の律速酵素として知られる3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル・コエンザイムAリダクターゼ(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase)を特異的に阻害することが分つた。これら化合物のコレステロール合成阻害作用〔ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー(J. Biol. Chem.) 234巻2835頁(1959年)記載の方法で測定〕を第1表に示す。

第1表 コレステロール合成を50%
阻害する濃度($\mu\text{g}/\text{ml}$)

	$\mu\text{g}/\text{ml}$
DUM-4メチルエステル	0.001
DUM-4 Na塩	0.0008
ML-236B(対照)	0.01

特開昭57-2240(4)

上述のように式(1)で示されるML-236B誘導体は、ML-236Bと同様に血清コレステロール低下作用を有する。しかしながらその作用はML-236Bに比べてはるかに強力であり、ML-236Bの作用からは予測できないものである。式(1)で示される化合物は高脂血症治療剤として非常に有効である。

特許出願人 三共株式会社

代理人弁理士 櫻出庄治